

Daniela Maria Teixeira de Magalhães

Avaliação do estresse oxidativo em doentes infetados por VIH/ Sida

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de ciências da saúde
Porto, 2013

Daniela Maria Teixeira de Magalhães

Avaliação do estresse oxidativo em doentes infetados por VIH/ Sida

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de ciências da saúde

Porto 2013

Daniela Maria Teixeira de Magalhães

Avaliação do estresse oxidativo em doentes infetados por VIH/ Sida

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como
parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestrado em
Ciências Farmacêuticas

Orientadora:

Prof. Doutora Cristina Almeida

Resumo

O estresse oxidativo é uma condição biológica que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de oxidantes e antioxidantes o que acarreta consequências graves para o organismo, como alterações nos lípidos, proteínas e ADN.

A produção de oxidantes faz parte dos mecanismos fisiológicos normais e ocorre diariamente no nosso organismo. Contudo, podem ser exacerbados por fatores externos. Ambas as causas de produção de radicais livres, principais oxidantes a serem produzidos, são importantes e constituem uma grande fonte da sua produção. O organismo possui mecanismos capazes de combater estes danos.

Está descrito na literatura que o estresse oxidativo está envolvido na progressão da infecção por VIH, provocando diversas alterações verdadeiramente importantes no percurso da infecção como alteração ao nível da replicação viral, enfraquecimento do sistema imunitário e elevada perda de peso.

Pretende-se assim, neste trabalho, fazer uma revisão bibliográfica sobre as alterações no metabolismo oxidativo em indivíduos infetados com VIH e avaliar a sua influência na evolução desta patologia.

Palavras-Chave: Estresse oxidativo, Radicais livres de oxigénio, infecção por VIH, antioxidantes.

Abstract

The oxidative stress it's a biological condition that occurs when there is na imbalance between the production of oxidants and antioxidants that entails serious consequences to the organism, such as exemple the changes in lipids, proteins and DNA.

The production of oxidants is part of normal physiological mechanisms in the body occurs daily. However, may be exacerbated by external factors. Both cause production of free radicals, leading to oxidative be produced, are important and are a major source of their production. The organism has mechanisms that can fight those damages.

It is writen that the oxidative stress it's involved in the progression of infection by HIV, resulting in several changes that are very importante in the route of infection, such as it is the change at viral replication level, impairment of immune sistem and critical lost of weigh.

In this job, it is intended to do a bibliographic review about the changes in the oxidative methabolism in individuals that are infected with HIV and evaluate that influence in the evolution of this pathology.

Key Words: Oxidative stress, Oxygen free radicals, HIV infection, antioxidants

Dedicatórias

Dedico esta monografia aos meus pais por todo o apoio prestado, e por toda a confiança que em mim depositaram.

Dedico também ao meu irmão que desde o início me apoiou e ao namorado que sempre esteve do meu lado em todos os momentos, a todos um muito obrigada.

Agradecimentos

Quero agradecer a Professora Doutora Cristina Almeida por toda a disponibilidade e orientação durante a elaboração desta monografia.

Índice

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	ESTRESSE OXIDATIVO	5
2.1	Generalidades.....	6
2.2	Espécies oxidantes	7
2.3	Dano oxidativo.....	10
2.4	Defesa antioxidante	11
2.4.1	Defesa enzimática	12
2.4.2	Defesa não enzimática	13
2.5	Deteção do estresse oxidativo.....	15
III.	VIH/SIDA	17
3.1	VIH/ Sida	18
3.2	Morfologia e organização.....	19
3.3	Ciclo viral	19
3.4	Estádios da doença	23
3.4.1	Primeiro estágio	23
3.4.2	Segundo estágio	23
3.4.3	Terceiro estágio/ Fase sintomática	24
3.5	Tratamento.....	25
3.5.1	Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa	26
3.5.2	Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa	26
3.5.3	Inibidores da protease	27
3.5.4	Inibidores da fusão do HIV com as células do hospedeiro	27
3.5.5	Pequenas moléculas antagonistas CCR5	27
IV.	ESTRESSE OXIDATIVO E VIH/SIDA.....	29
4.1	Infeção por VIH e estresse oxidativo	30

4.2	Toxicidade do tratamento antirretroviral.....	35
V.	CONCLUSÃO	38
VI.	BIBLIOGRAFIA.....	40

Abreviaturas

ADN- Ácido Desoxirribonucleico

ADNmt- Ácido Desoxirribonucleico mitocondrial

ARN- Ácido Ribonucleico

ATP- Adenosina Trifosfato

CAT- Catalase

CDC- Centers for Disease Control and Prevention

ERO- Espécies Reativas de Oxigênio

ERA- Espécies Reativas de Nitrogênio

FDA- Food and Drug Administration

GPx- Glutathione Peroxidase

GSH- Glutathione

GSSH- Glutathione Oxidada

HAART- Terapia Tripla de Alta Eficiência

HPLC- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IL- Interleucina

IRES- Internal Ribosome Entry Site

MDA- Ácido Malondialdeído

NRTI- Inibidores de Transcriptase Reversa de Análogos de Nucleosídeos

OMS- Organização Mundial de Saúde

PTP- Fosfatases Proteicas de Tirosina

PTK- Fosfatases Proteicas de Cinases

SIDA- Síndrome de Imunodeficiência Adquirida;

SOD- Superóxido Dismutase

TAS- Total Antioxidant Status

TBARS- Ácido Tioarbitúrico

TCR- Recetor de Células T

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

VS- Velocidade de Sedimentação

I. Introdução

1.1 Enquadramento

A infeção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) é causada por dois tipos de retrovírus, VIH 1 e 2, sendo que o primeiro é o mais difundido e com vários subtipos genéticos, enquanto o segundo se encontra praticamente confinado a África, e é o menos virulento (Borel *et al.*, 1999). O estado mais avançado da infeção pelo VIH designa-se SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2011 estimou-se que 34 milhões de pessoas estavam infetadas pelo VIH, e nas últimas três décadas esta doença já tirou a vida a mais de 25 milhões de pessoas (OMS, 2012). Só no ano de 2004, cerca de 3 milhões de pessoas perderam a vida devido a esta doença, e ainda houve um registo de 5 mil novos casos (Rang *et al.*, 2008). Esta epidemia é predominante na África subsaariana onde, em cada 20 adultos 1 é portador da doença VIH, e 69% dos infetados vivem nesta área (OMS, 2012).

Esta doença tem como característica principal o enfraquecimento do sistema imunitário, o que origina o aparecimento de doenças oportunistas. As infeções graves, consistem na tuberculose, considerada a infeção oportunista mais comum em indivíduos com VIH, a meningite, causada por *Cryptococcus Neoformans*, a hepatite B e C, e a malária (Cuppari e Ferrini, 2002; Chang *et al.*, 2013).

O intestino é um dos principais alvos das doenças relacionadas com a SIDA, sendo que as suas complicações, ou patologias, estão associadas á diarreia, candidíase oral e esofágica, disfagia e odinofagia, o que poderá levar a um desequilíbrio nutricional do paciente com SIDA (Sepulveda e Watson, 2002).

A desnutrição afeta o sistema imunológico predispondo também o doente a uma grande variedade de doenças patogénicas. Desta forma, seguir uma alimentação equilibrada parece ser essencial para os indivíduos VIH-positivos.

Estes doentes ostentam descomunais desequilíbrios ao nível dos micronutrientes como vitamina A, C, B12, e minerais como zinco e selénio, principalmente devido à ingestão

menos de 50% do recomendado (Cuppari e Ferrini, 2002) mas também devido às alterações gastrointestinais. Alguns autores sugerem a suplementação de micronutrientes, usando pró-bióticos que se caracterizam por preparações ou produtos que incluem microrganismos viáveis, e pré-bióticos que se definem como alimentos não hidrolisáveis no trato gastrointestinal superior, promovendo preferencialmente o crescimento de bactérias intestinais. Esta suplementação deve ser prudente e individualizada pois é necessária para manter o sistema imunológico, aumentar a integridade das superfícies das mucosas e melhorar as respostas aos anticorpos, através do aumento da proliferação de glóbulos brancos (Cuppari e Ferrini, 2002; Suttajit, 2007; Damião, A., 2008). Alterações neurológicas são também responsáveis pelo emagrecimento acentuado e bem visível, tão característico neste tipo de doentes, pois influenciam o apetite e a capacidade de ingestão de alimentos (Cuppari e Ferrini, 2002). Nas crianças podem ocorrer alterações no ritmo de crescimento bem como o comprometimento da função imune devido a deficiências de micronutrientes. Também a presença de radicais livres podem alterar a patogenicidade e a replicação viral, o que pode modificar a transmissão, assim como o percurso clínico da infeção (Oliveira e Patin 2008).

Indivíduos infectados com VIH têm uma infeção crónica devido à acumulação de vírus em determinados locais do organismo o que origina uma inflamação crónica. Esta situação acarreta uma produção contínua de oxigénio associado a uma diminuição da capacidade antioxidante que predispõe a um quadro de estresse oxidativo e as suas consequências (Valle *et al.*, 2013).

Estudos demonstram que a medicação parece acentuar este desequilíbrio, devido à toxicidade que provoca ao nível mitocondrial (Valle *et al.*, 2013).

Os radicais livres são responsáveis por causar danos estruturais nas células, no entanto quando se encontram em pequenas quantidades podem ser benéficos para o organismo, pois participam em processos importantes como, produção de energia, fagocitose, e regulação do crescimento celular (André *et al.*, 2006).

Segundo (Uzasci *et al.*, 2013), é observado um desequilíbrio redox em pacientes infetados pelo VIH, este fenómeno pode ser explicado pela diminuição de antioxidantes o que leva a uma excessiva acumulação de oxidantes.

1.2 Objetivos

No âmbito do mestrado de Ciências Farmacêuticas da Universidade Fernando Pessoa, foi-nos proposta a elaboração de uma monografia, onde me dispus a abordar “ A avaliação do estresse oxidativo em doentes infetados por VIH/Sida”.

Os tópicos mais importantes a salientar de forma a ir de encontro ao mesmo, baseiam-se na avaliação do estresse oxidativo e qual a sua implicação nos doentes infetados com VIH, de forma a perceber quais os mecanismos por trás dessa patologia assim como o seu envolvimento na progressão da doença. Para cumprir este objetivo fez-se uma pesquisa bibliográfica exaustiva relativamente aos mecanismos oxidativos e antioxidantes, ao VIH e à relação entre ambos.

Para que este assunto fosse devidamente compreendido surgiu a necessidade de pesquisar de forma um pouco exaustiva a atividade antioxidante e a evolução da infeção por VIH até à sua fase final.

II. Estresse Oxidativo

2.1 Generalidades

O estresse oxidativo caracteriza-se pelo aparecimento de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio e antioxidantes (Zanuto et al., 2011). A formação de moléculas de oxigénio altamente reativas, é o resultado bastante frequente de uma múltipla variedade de reações bioquímicas essenciais, e está associado ao aumento do estresse oxidativo (Saltman, 1989).

Todas as espécies reativas, radicais ou não, são chamadas de espécies reativas de oxigénio (ERO).

O estresse oxidativo pode ter origem externa, sendo provocado por hábitos de vida pouco saudáveis como, por exemplo, a exposição ao tabaco (Morrow et al., 1995), exposição aos raios ultra violeta, radiação ionizante, entre outros (Vasconcelos et al., 2006), ou, pode ser proveniente de fontes endógenas tais como as mitocôndrias. A cadeia mitocondrial transportadora de eletrões é a principal fonte de energia do organismo. Durante a transdução de energia ocorre uma pequena perda de oxigénio formando o radical superóxido livre. No entanto, também podem advir da atividade de determinadas enzimas tais como xantina oxidase, citocromo P450 oxidase, monoaminoxidases, entre outras (Valko *et al.*, 2007).

Estima-se que 5% de todo o oxigénio consumido pela respiração celular será convertido num radical livre ou ERO (Zanuto et al., 2011). O aumento de espécies reativas de oxigénio encontra-se também associado a danos parenquimatosos tais como hepatite anictérica subclínica, hepatite necro-inflamatória, cirrose e cancro. Existem também semelhanças histopatológicas entre a hepatite tóxica e hepatite viral (Stehbens, 2004).

O estresse oxidativo encontra-se associado à hepatite viral bem como ao vírus VIH (Stehbens, 2004), mas não só, encontra-se também relacionado a outras patologias como doença de Alzheimer, fibrose sistémica, diabetes, hipercolesterolemia mista, síndrome hepatorenal, edema clínico entre outras (Hulgan et al., 2003; Weffort, 2008).

2.2 Espécies oxidantes

Os radicais livres, são qualquer espécie de átomos ou moléculas com a capacidade de existir independentemente de outras espécies e que contêm um ou mais eletrões não emparelhados, ocupando uma orbital atómica ou molecular isoladamente. É esta singularidade que lhes confere a reatividade e instabilidade química. Desta forma tendem a interagir com outras moléculas na sua proximidade, através da captação ou cedência de eletrões (Yu, 1994). Os radicais livres são altamente reativos, desempenhando um papel fundamental na regulação fisiológica, bem como em inúmeros processos degenerativos e patológicos (Vannucchi et al., 1998).

A estrutura molecular e atómica dos radicais livres possui normalmente eletrões associados em pares, onde cada par de eletrões tem um número quântico associado de $+\frac{1}{2}$ ou $-\frac{1}{2}$. Os radicais podem formar-se através da quebra de ligações covalentes, onde um eletrão de cada um dos pares permanece em cada átomo, sendo este processo designado de cisão homolítica (André *et al.*, 2006).

A geração de radicais livres constitui por primazia um processo contínuo e fisiológico cumprindo os requisitos biológicos relevantes. Assim, durante os processos metabólicos, os radicais livres agem como mediadores na transferência de eletrões no decorrer das várias reações bioquímicas. Quando se encontram em proporções adequadas possibilitam a geração de ATP, através da cadeia transportadora de eletrões, e participam nos mecanismos de defesa durante processos de infeção. No entanto quando a sua produção se torna excessiva podem originar danos oxidativos (Shami e Moreira, 2004).

As espécies reativas incluem as espécies reativas de oxigénio e as espécies reativas de azoto.

As principais espécies reativas de oxigénio são: o anião radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o dioxigénio singuleto (1O_2) e o radical hidroxilo (HO^{\cdot}). O peroxinitrito ($ONOO^-$) é considerado por alguns autores como uma espécie reativa de oxigénio e por outros uma espécie reativa de azoto.

O anião radical superóxido em meio aquoso possui a capacidade de reagir rapidamente com determinados complexos proteicos como enxofre (Halliwell e Gutteridge, 1999). Pode também reagir com moléculas biológicas através da abstração de um átomo de hidrogénio (Santos et al., 2007). Este radical pode também ser precursor do radical hidroxilo através da reação Haber-Weiss, quando se encontram presentes metais de transição (Santos *et al.*, 2007).

O peróxido hidrogénio (H_2O_2) possui a capacidade de inativar diretamente algumas enzimas através da oxidação de grupos sulfidrilo localizados no centro ativo. Quando se encontra no interior das células pode reagir com iões ferro e cobre, originando espécies como HO^\bullet (Yu, 1994). Este pode reagir com metais de transição como o ferro que é um elemento extremamente importante para os processos oxidativos, não só pela sua participação nos processos mas também porque existe em grandes quantidades no corpo humano. Quando o ferro se encontra ligado a proteínas como por exemplo, hemoglobina, transferrina, e ferritina é incapaz de reagir com o H_2O_2 .

Uma redução de pH pode originar uma libertação de ferro das proteínas, ficando este livre e pronto para reagir com H_2O_2 e assim originar espécies reativas do oxigénio, como o radical hidroxilo (Droge, 2002). No entanto não é apenas a variação de pH que leva á libertação de ferro, a ocorrência de uma lesão a nível celular também pode ser responsável pela libertação deste a nível intracelular, tornando-o disponível para reagir com H_2O_2 (Santos et al., 2007).

O radical hidroxilo (OH^\bullet) é a espécie mais reativa apresentando um elevado potencial redutor. A sua capacidade de difusão é muito baixa devido ao seu tempo de meia vida ser reduzido (Yu, 1994). Quando é produzido próximo do ADN, e este se encontrar fixado a um metal, podem ocorrer alterações ao nível das bases purícas e pirimidínicas, o que pode levar á inativação ou mutação do ADN (Ferreira e Matsubara, 1997).

O radical peróxido (RO_2^\bullet) quando formado em sistemas biológicos rapidamente sofre rearranjos moleculares originando outras espécies de radicais. Este pode ainda derivar do ataque do radical hidroxilo devido a compostos orgânicos, uma vez que os produtos finais dessas reações apresentam radicais com o eletrão desemparelhado que se localiza

no carbono, e onde em condições aeróbias pode reagir diretamente com o O_2 (Santos *et al.*, 2007).

O dióxigénio Singleto (1O_2) possui a capacidade de interagir com outras moléculas por meio de duas vias, reagindo diretamente com a outra espécie química ou transferindo a energia de excitação para a outra molécula, retornando ao estado fundamental (Júnior *et al.*, 2000).

O estresse oxidativo não ocorre apenas devido a ERO, surge também em consequência das espécies reativas de azoto ou nitrogénio ERA (André *et al.*, 2006). As ERA incluem óxido nítrico ($NO\bullet$), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peróxinitritos ($ONOO^-$), sendo estas as principais responsáveis pelo combate de corpos estranhos (David e David, 2006).

O óxido nítrico participa numa variedade de processos biológicos que incluem relaxamento muscular, neurotransmissão e regulação da função imune. Encontra-se também envolvido em processos de regulação da pressão arterial (Vasconcelos *et al.*, 2006).

Os nitritos são formados a partir da exposição de $NO\bullet$ com o ar, são ainda considerados como potentes iniciadores da peroxidação lipídica em fluidos biológicos.

Os peroxinitritos são instáveis possuem um tempo de vida curto, potentes oxidantes, têm a capacidade de causar danos a moléculas biológicas incluindo os grupos S-H das proteínas (Vasconcelos *et al.*, 2006).

Todas as espécies reativas de oxigénio ou de nitrogénio possuem benefícios para o organismo, como participação das funções biológicas, controlo da pressão sanguínea, apoptose e fagocitose de agentes patogénicos. Porém quando se encontram em excesso podem ser prejudiciais ao organismo, sendo necessário que este crie formas de defesa.

2.3 Dano oxidativo

O dano oxidativo pode caracterizar-se como sendo um ataque direto por parte de EROs a moléculas biológicas importantes, como lípidos, proteínas celulares e ADN (Berbecki et al., 2011). Assim elevadas concentrações de radicais livres (sendo as mais importantes as espécies reativas de oxigénio) podem originar danos nas estruturas do ADN ARN, de proteínas e componentes lipídicos, podendo originar alterações funcionais bem como prejuízo das suas funções vitais em diversos tecidos e órgãos dentre os quais músculo-esquelético, fígado, tecido adiposo, coração e cérebro ou, em casos mais graves, pode originar mesmo morte celular (apoptose) (Zanuto et al., 2011). As ERO podem reagir com as macromoléculas podendo degradá-las automaticamente ou dar início a uma série de reações onde o radical livre é transferido entre as macromoléculas originando a inviabilização dos genes e consequentemente formação de proteínas não funcionais, inativação de enzimas, bem como alteração das funcionalidades de algumas estruturas celulares nomeadamente das membranas (Stehbens, 2004). As macromoléculas, tais como proteínas, lípidos, ADN e glúcidos, podem no entanto, apresentar diferentes graus de suscetibilidade, dependendo da sua estrutura química bem como do ambiente celular que pode estar mais ou menos preparado para enfrentar o estresse oxidativo (Santos *et al.*, 2007).

A título exemplificativo ao nível do ADN podem observar-se danos nas bases purina e pirimidina, conseguindo mesmo clivar as ligações fosfodiester chegando a apresentar atividade mutagénica.

O problema mais grave que advém do radical hidroxilo é a quebra da cadeia dupla de ADN pois a sua reparação é difícil a nível celular (Santos *et al.*, 2007).

Modificações bioquímicas impulsionadas pelas espécies reativas de oxigénio originam uma resposta fisiológica que pode provocar a morte celular.

Convém referir que em células musculares, os radicais livres, quando em pequenas concentrações, exercem importantes funções fisiológicas, desde o aumento da permeabilidade ao Ca^{2+} , aumento da força durante a contração muscular, e mesmo a

regulação da expressão génica. A prática de exercício físico pode ainda aumentar as concentrações do óxido nítrico relacionada com a regulação do fluxo sanguíneo, expressão génica e modulação da concentração muscular (Zanuto et al., 2011).

Uma excessiva produção de ERO pode ser relacionada com uma hiper-ativação de leucócitos polimorfonucleares. Durante infeções estes podem atacar as duplas ligações dos ácidos gordos polinsaturados, induzindo a peroxidação lipídica, resultando num maior dano oxidativo celular (Freeman e Crapo, 1982).

2.4 Defesa antioxidante

A defesa antioxidante caracteriza-se por ser um conjunto de substâncias compostas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais, e outros compostos vegetais e enzimas, cuja função se caracteriza pela inibição ou redução dos efeitos deletérios causados pelos radicais livres (Clarkson e Thompson, 2000).

Esta capacidade de defesa pode ser alcançada no decorrer de três processos, o primário que se caracteriza pela ação de prevenção principalmente na inibição de reações em cadeia com ferro e cobre, isto é, identifica-se pela proteção contra a formação da substância agressora, isto é, o radical livre. O secundário, caracteriza-se pela interceção, ou seja, os antioxidantes precisam de interceder os ataques efetuados pelas ERO, os quais, uma vez formados em excesso, iniciam os seus efeitos deletérios. E, por fim, o processo de reparação, que se associa à remoção de danos da molécula de ADN bem como a reconstituição das membranas celulares danificadas. Este mecanismo, ocorre quando os dois anteriores processos de prevenção e interceção não foram completamente eficientes (Bianchi e Antunes, 1999).

A defesa antioxidante pode ser dividida em defesa enzimática (SOD, catalase, glutathione peroxidase) e não enzimática (glutathione, ubiquinona, ácido úrico, vitamina C, Vitamina A, Vitamina E, entre outras).

2.4.1 Defesa enzimática

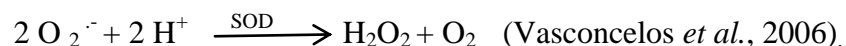
A defesa enzimática antioxidante, é representada pela superóxido dismutase, pela catalase e pela glutathione peroxidase. Estas enzimas atuam ao nível do processo primário de defesa antioxidante, como referido anteriormente. Cada enzima possui a sua própria função, como se descreve seguidamente (Ferreira e Matsubara, 1997).

No que concerne à superóxido dismutase, esta catalisa a dismutação do anião radical superóxido a peróxido de hidrogénio e oxigénio. No organismo podem encontrar-se duas formas de enzima SOD, uma que contém Cu^{2+} e Zn^{2+} como centros redox. A SOD que contém Zn^{2+} , pode encontrar-se no citosol e a sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo. A outra forma SOD contém Mn^{2+} como centro redox, e encontra-se na mitocôndria. A sua atividade encontra-se aumentada com o aumento do estresse oxidativo (David e David, 2006). Cofatores enzimáticos como Cu^{2+} , Zn^{2+} e Mn^{2+} , são capazes de competir com metais de transição pela catálise da reação de Haber-Weiss, o que resulta na produção de moléculas não radicais (Percário e Baptista, 1996).

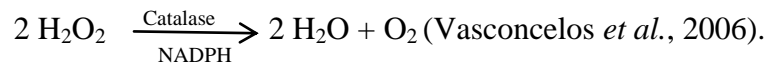
Reação de Haber – Weiss



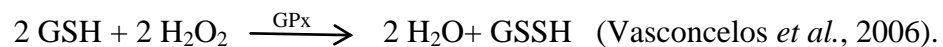
O anião radical superóxido é proveniente da ativação de determinadas células durante o processo inflamatório, como fagócitos, linfócitos ou fibroblastos. É importante referir que o anião radical superóxido quando em quantidades normais, é essencial para as células de defesa protegendo o organismo contra infeções causadas por vírus, bactérias ou fungos



A catalase, uma hemoproteína citoplasmática, atua na decomposição do peróxido de hidrogénio a oxigénio e água.



E, por fim, a glutathione peroxidase que desempenha um papel importante ao nível do metabolismo das espécies reativas de oxigénio pois atua nos peróxidos catalisando a decomposição do peróxido de hidrogénio, (Vasconcelos *et al.*, 2006 e Sundaram *et al.*, 2008),



De seguida a GSSH é regenerada surgindo a seguinte equação:



Para além do seu principal papel, a glutathione, também tem a função de eliminador endógeno direto de radicais de hidroxilo estando também envolvido na desintoxicação e metabolismo de determinados produtos químicos e drogas do fígado (Sundaram *et al.*, 2008).

2.4.2 Defesa não enzimática

Os mais conhecidos antioxidantes são o betacaroteno (derivados da vitamina A), a vitamina C e a vitamina E, ubiquinona, glutathione, e ácido úrico (Vannucchi *et al.*, 1998).

A vitamina E é um dos principais antioxidantes não enzimáticos que pode ser encontrada em órgãos como coração, testículos, fígado e glândulas adrenais, sendo o seu isómero α -tocoferol o que exerce maior atividade antioxidante, e a sua principal função é ser sequestrador de radicais superóxido e hidroxilo (Traber e Packer, 1995). No entanto, possui também uma importante característica que se prende com a capacidade de proteção contra a peroxidação lipídica pois consegue bloquear a ação dos

radicais peroxilo e alcoxilo terminando a reação de peroxidação lipídica. Esta inibição só é possível porque o α -tocoferol cede um átomo de hidrogénio ao radical peroxilo (Serbinova *et al.*, 1989).

No que concerne à vitamina A ou carotenoide, esta possui a capacidade de proteger os lípidos da peroxidação lipídica uma vez que reage com os radicais livres, mais particularmente com o peroxilo (Palozza e Krinsky, 1992).

A ubiquinona, comumente designada de coenzima Q, também tem a sua relevância na defesa antioxidante, pois a sua forma reduzida a ubiquinol atua como antioxidante, prevenindo, ou impedindo a iniciação da peroxidação lipídica nas membranas biológicas (Frei *et al.*, 1990).

Conforme o autor Stehbens, no plasma humano a proporção de ubiquinol (reduzida) no plasma humano em relação à ubiquinona oxidada é aproximadamente de 95:5 em indivíduos saudáveis, verificando-se que ocorre um significativo aumento da ubiquinona em indivíduos com estresse oxidativo (Stehbens, 2004).

Relativamente à vitamina C, ou ácido ascórbico, este possui grande atividade antioxidante, porque tem a capacidade de reagir diretamente com vários radicais livres incluindo o oxigénio singlete. Este pode reduzir o Fe (III) a Fe (II) na presença de peróxido de hidrogénio, estimulando a formação de OH⁻, um efeito negativo que se encontra em estudo (Vannucchi *et al.*, 1998).

No que concerne à glutathione, este antioxidante encontra-se presente na maioria das células, estando a sua atividade associada ao grupo tiol presente na cisteína. Demonstrou-se que concentrações de glutathione hepáticas e pulmonares podem ser restabelecidas com suplementação oral de um único substrato, a cisteína (Vannucchi *et al.*, 1998).

Relativamente ao ácido úrico este representa parte da defesa natural dos tecidos contra o estresse oxidativo. É um importante antioxidante no soro tendo como principal função a

captação de radicais livres o que lhe confere capacidade para inibir a peroxidação lipídica. É resultado final o metabolismo das purinas (Freire et al., 2003).

2.5 Detecção do estresse oxidativo

Existem várias formas de deteção do estresse oxidativo. As mais utilizadas para a deteção consistem no doseamento de superóxido dismutase, glutathione, catalase, malondialdeído, atividade total de antioxidantes, ácido úrico e isoprostanos F_2 .

A TAS é um parâmetro que avalia a atividade total antioxidante presente no organismo, a nível da suplementação de vitaminas antioxidantes como do estresse oxidativo imposto ao organismo (Matos *et al.*, 2009). Este permite estimar, *in vitro*, a capacidade de todos os antioxidantes presentes no soro (Barbosa et al., 2008).

No que concerne ao ácido úrico, este pode ser considerado um bom detetor de estresse oxidativo uma vez que é um produto secundário de excreção, derivado das bases purínicas, encontrando-se nos tecidos orgânicos na forma de anião urato (David e David *et al.*, 2006). Estudos revelaram que o ácido úrico é rapidamente absorvido (Freire et al., 2006).

Relativamente à superóxido dismutase, à glutathione e à catalase estas podem ser utilizadas como bio-marcadores pois agem como antioxidantes, no combate ao stress oxidativo.

A glutathione é um tripeptido (L-glutamyl-L-cisteinyl-glicina), que pode ser encontrada no organismo sob a forma reduzida (GSH) ou oxidada (GSSG), ambas são fundamentais para a manutenção da integridade do ciclo catalítico da glutathione.

Quando ocorre estresse oxidativo, ocorrem mudanças no estado redox da glutathione, ocorrendo um desequilíbrio entre a produção de GSSG e o consumo de GSH, desta forma a magnitude do estresse oxidativo pode ser controlada pelas dosagens de GSSH e/ou pela razão GSSG/GSH (Barbosa *et al.*, 2008).

Uma das técnicas mais utilizadas para se avaliar a oxidação de lípidos é o teste do malondialdeído (MDA), que resulta para produção de um composto corado após reação com o ácido tiobarbiturico (TBARS). Este ensaio é de uso extremamente fácil no entanto pouco específica devido a facilidade de reação do TBARS com outros substratos como aldeídos. Desta forma este método torna-se ultrapassado, sendo substituído pelo método de HPLC, tornando método mais sensível, específico e com maior reprodutibilidade (Mayne, 2003).

Segundo Hulgan *et al.*, 2007, as isoprostanos F₂ (F₂-IsoPs), são os marcadores mais precisos no que concerne à determinação do estresse oxidativo, e forma uma série de diferentes isoprostanos formados a partir da peroxidação do ácido araquidónico.

III. VIH/SIDA

3.1 VIH/ Sida

A síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA), foi pela primeira vez descrita em 1981, nos Estados Unidos, após serem notificados casos aos Centers for Disease Control and Prevention (CDC). A população de estudo destes centros consiste em grupos de indivíduos homossexuais do sexo masculino, outrora saudáveis, que apresentavam casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* e sarcoma de Kaposi (Rachid e Schechter, 2003).

Só em 1983 foi identificado o agente etiológico ou seja, o agente responsável pelo aparecimento da doença, designado de VIH ou Vírus da Imunodeficiência Humana. Este pertence à família *retroviridae*, mais comumente identificada de retrovírus, que surge da subfamília de lentivírus, cujo prefixo “lenti” significa lentidão (Lewi *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2010). Como o prefixo indica, a doença desenvolve-se de uma forma lenta e gradual, o que a faz prolongar-se por vários anos, sendo, em muitos casos, silenciosa, pois o hospedeiro não se apercebe da presença da mesma.

Como já referido anteriormente, o VIH caracteriza-se por uma doença com aptidão para diminuir a capacidade de defesa do organismo e, assim, permitir a sua replicação bem como facilitar a entrada de outros microrganismos (Shin *et al.*, 2012). O seu desenvolvimento é caracterizado pela constante apoptose de células T CD4⁺ e pelo aparecimento de infeções oportunistas devido a perturbações do metabolismo energético (Perl e Banki, 2000). A título de exemplo pode dizer-se que o aumento de estresse oxidativo nos portadores de VIH é caracterizado pelo decréscimo dos níveis de glutathione e aumento da peroxidação lipídica, sendo este um dos principais mecanismos de lesão celular provocado pelo estresse oxidativo (Allard *et al.*, 1998).

Esta doença está associada a uma fácil transmissão, sendo caracterizada não só pela capacidade de destruição do sistema imunitário como também pela sua capacidade na depleção de nutrientes, devido a uma elevada excreção dos mesmos, o que diminui as capacidades de proteção e reação do organismo (Vannucchi *et al.*, 1998 e Calderon *et al.*, 1990). Desta forma, é essencial uma monitorização adequada do nível nutricional de modo a minimizar as consequências e regular o bom funcionamento do organismo.

É importante frisar que os doentes infectados com VIH têm uma infecção crónica o que leva a uma inflamação crónica originada pela persistência viral que leva o organismo a uma ativação permanente do sistema imunitário, esta constante ativação vai ter como consequência uma produção contínua de espécies reativas de oxigénio. Estas consequências associadas a uma diminuição da capacidade antioxidante, resultante da própria progressão da doença, predispõe a um quadro de estresse oxidativo.

3.2 Morfologia e organização

No que remete à estrutura viral, o VIH é um pequeno vírus envelopado, cuja superfície é composta por uma membrana lipídica proveniente da membrana externa da célula hospedeira e duas glicoproteínas a gp 120 e a gp 41. No seu interior é possível observar-se uma matriz proteica formada pela proteína p17 e a proteína p24 que constitui a cápside viral onde se encontram aglomerados o material genético, o ARN de transferência e as principais enzimas necessárias para a replicação viral.

Convém ainda referir que o seu genoma é mais complexo do que os retrovírus oncogénicos pois possuem alguns genes de replicação adicionais (Ferreira *et al.*, 2010).

3.3 Ciclo viral

A primeira etapa de infeção viral passa pela adesão dos viriões, ou seja, partículas virais completas, à superfície da célula alvo como se pode visualizar na figura 1 (Ferreira *et al.*, 2010).

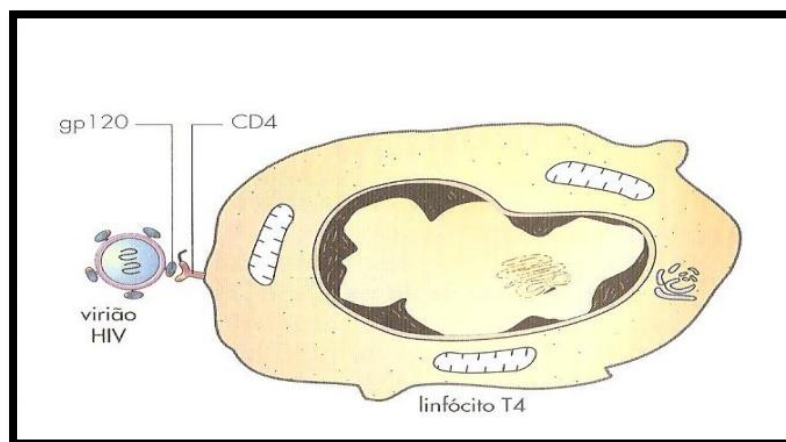


Figura 1: Fixação de um virião do vírus HIV num linfócito T4. (Retirado de Daudel e Montagnier, 1994).

Posteriormente ocorre adsorção, entre o vírus e a célula hospedeira, processo que se desenvolve através da ligação da proteína viral gp120 a recetores específicos da célula hospedeira nomeadamente a molécula CD4, ocorrendo uma fusão entre as membranas. Normalmente, a molécula CD4 que funciona como intermediário participando na fixação dos linfócitos T e B entre o complexo e o antígeno estranho (Borel et al., 1999).

Após a entrada do vírus na célula hospedeira, ocorre libertação de enzimas víricas e ARN para o citoplasma.

Sendo o seu ácido nucleico apenas ARN, este vírus possui uma enzima transcriptase reversa, que lhe proporciona a transcrição do ARN viral em ADN, podendo assim integrar-se no genoma da célula do hospedeiro, onde é designado de pró-vírus (Daudel e Montagnier, 1994). Depois da formação do pró-vírus surge a capacidade de controlar a maquinaria celular para o seu próprio benefício. Assim o ADN viral é copiado em ARNm que é transcrito em proteínas virais, desencadeando-se a montagem do vírus e posterior incubação (Rachid e Schechter, 2003; Lewi et al., 2004; Wilen et al., 2010).

O VIH infeta principalmente células que apresentam a molécula CD4 à sua superfície, nomeadamente os linfócitos CD4 e macrófagos (Rachid e Schechter, 2003). As moléculas CD4 possuem a capacidade de fixar uma das proteínas do invólucro do virião VIH, o gp120. Deste modo, o virião encontra-se fortemente fixado ao linfócito e o seu invólucro adquire nova forma fundindo-se. Após este processo, o virião apenas se limita a introduzir o ARN no interior do linfócito (Daudel e Montagnier, 1994). Desta forma as moléculas CD4 operam como recetores do vírus, mediando a invasão celular (Rachid e Schechter, 2003). Quando os retrovírus invadem a superfície do linfócito, os viriões conseguem evadir-se e infetar não só os linfócitos (figura 2) como também os macrófagos, uma vez que estes podem manter-se muito tempo infetados sem que sejam eliminados, o mesmo não acontece com os linfócitos pois estes morrem devido a uma sobrecarga viral (Daudel e Montagnier, 1994 ; Rachid e Schechter, 2003).

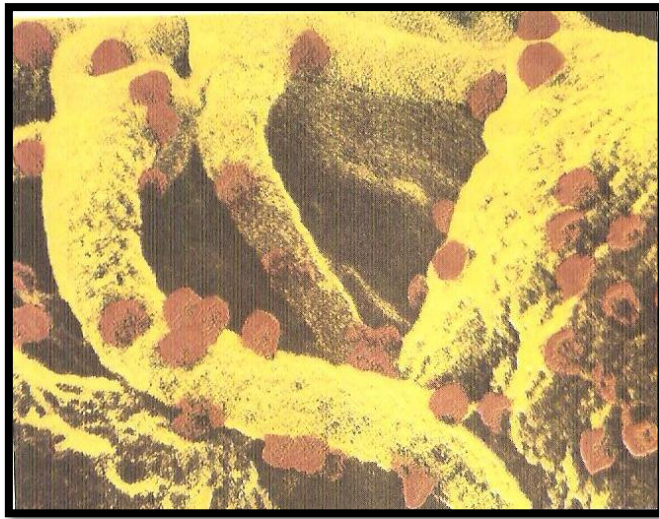


Figura 1: Linfócito T4 infectado pelo vírus da sida (Retirado de Daudel e Montagnier, 1994).

A fixação da gp120 tem um efeito adesivo em vários linfócitos CD4 que se fundem num sincício. Contudo, apenas a presença da molécula CD4 não é suficiente para que o vírus entre na célula (Borel et al., 1999).

Em 1996, novas moléculas como CCR5, CXCR4 e CCR2 denominadas de recetores de quimiocinas, também conhecidos como coreceptores de VIH, presentes nas células T, células dendríticas e macrófagos. Relativamente à molécula CCR5 esta encontra-se associada à infeção primária devido ao contágio dos macrófagos. A molécula CXCR4 é frequentemente isolada após a infeção, participando na infeção de linfócitos, pois estas moléculas funcionam como um ligando complementar para a proteína Env (complexo funcional de gp41 e gp120), proporcionando além de uma adsorção estável, uma conformação da gp120 que leva a gp 41 a aproximar-se de domínios especializados da membrana da célula levando à fusão desta com o involucro do vírus (Rachid e Schechter, 2003). A CCR5 serve para fazer penetrar VIH selvagem, aquando da primeira infeção, e a CXCR4 atua na passagem para novas células, durante o desencadeamento da infeção (Borel et al.,1999; Deresz et al., 2007 ; Eugenia et al., 2007).

Como já referido anteriormente este vírus possui um envelope contendo uma proteína gp120 ou gp41 originando a gp 160, proteínas essenciais para o processo infeccioso uma

vez que atuam na ligação e entrada do conteúdo viral na célula hospedeira. A gp160 possui uma afinidade para formar ligações com as células do sistema imunitário portadoras da proteína CD4, esta ligação é seguida por uma outra a um co-recetor que pode ser o CCR5 ou o CXCR4. A organização destes co-recetores na superfície das células do sistema imunitário nomeadamente nos linfócitos e nos macrófagos/monócitos é o que determina o tropismo para os diferentes tipos de células (Arts e Hazuda, 2012).

A infeção viral é seguida de uma estimulação dos linfócitos B, que segregam anticorpos para neutralizar o vírus em circulação. Os linfócitos portadores da proteína membranar CD4 diminuem de número ao fixarem o vírus e deixam de poder ajudar os linfócitos CD8 a tornar-se citotóxicos e os linfócitos B a formar anticorpos. A diminuição dos linfócitos T CD4, seguida dos linfócitos CD8, caracteriza o sinal da evolução da doença. A diminuição da secreção de IL-2 por parte dos linfócitos debilita a resposta citotóxica ao vírus ou às células que o contêm, isto porque a IL-2 é responsável pela maturação de linfócitos B e células T. O decréscimo das defesas imunitárias explica a eclosão de infeções oportunistas nos indivíduos atingidos pelo VIH (Borel et al., 1999).

Alguns indivíduos resistem espontaneamente à infeção do VIH melhor do que outros.

A proteína recetora CCR-5 pode estar na origem dessa resistência pois pode encontra-se inibida não promovendo a fixação viral (Borel et al.,1999).

Este vírus como todos os outros tem a capacidade de sofrer mutação. Segundo os autores Arts e Hazuda é estimado que uma mutação ocorra entre cada 1000-10000 nucleótidos sintetizados. Esta capacidade de diversidade genética torna o vírus mais resistente aos fármacos (Arts e Hazuda, 2012).

3.4 Estádios da doença

3.4.1 Primeiro estágio

Primo-infecção, primeiro estágio ou fase aguda são algumas das designações que se podem atribuir a esta fase. É uma fase assintomática e ocorre duas a quatro semanas após o indivíduo entrar em contacto com o vírus da SIDA, sendo que a pessoa afetada não se apercebe de absolutamente nada, pois não há sintomas específicos, como já foi referido (Daudel e Montagnier, 1994).

Nesta fase ocorre uma redução da viremia, e posteriormente sofre replicação viral silenciosa (Rang *et al.*, 2008).

Num período de duas a dez semanas após o contacto com o vírus poderão aparecer alguns sintomas semelhantes com uma ligeira gripe. Podem, no entanto, surgir sintomas mais particulares mas que continuam a ser pouco específicos e que acabam por desaparecer ao fim de algumas semanas. É necessário frisar que, nesta fase, os testes para deteção de anticorpos se revelam incapazes de detetar o vírus, isto porque o organismo ainda não teve tempo de produzir uma quantidade elevada de anticorpos (Daudel e Montagnier, 1994).

Em contrapartida, os métodos moleculares como PCR, bDNA e NASBA são mais específicos e possuem uma sensibilidade elevada.

É de salientar que pacientes com serologia negativa possuem uma carga viral inferior ao seguinte intervalo 5.000-10.000 cópias/ ml. Desta forma, podem obter-se resultados falsos-negativos, o que não significa que a pessoa se encontre no período designado de janela imunológica (Rachid e Schechter, 2003).

3.4.2 Segundo estágio

Segundo estágio ou fase assintomática são dois sinónimos para definir esta fase.

É caracterizada por seropositividade o que significa que os anticorpos passam a poder ser detetados no sangue mediante testes adequados, sendo que o individuo continua sem manifestações clínicas.

Os exames laboratoriais devem incluir também o hemograma completo VS (velocidade de sedimentação), que podem fornecer dados sobre a evolução da imunodeficiência, uma vez que esta se encontra associada a leucopenia, trombocitopenia e aumento de VHS (Rachid e Schechter, 2003; Daudel e Montagnier, 1994).

3.4.3 Terceiro estágio/ Fase sintomática

Esta última etapa pode ser precoce quando ocorrem manifestações em indivíduos com imunodeficiência numa fase inicial mas podem também surgir, em indivíduos imunocompetentes, ou tardia, quando ocorrem infeções ou neoplasias abundantes neste tipo de indivíduos (Rachid e Schechter, 2003).

Agora o individuo acusa uma permanente inflamação dos gânglios, característica da fase de adenopatias persistentes, durante a qual se podem observar sintomas patológicos. Existe uma imunodeficiência podendo ser acompanhado por outros sintomas clínicos, sendo os mais correntes a candidíase bucal, febre, diarreia crónica ou astenia. Por fim, a imunodeficiência torna-se mais severa possibilitando o aparecimento de doenças oportunistas (Daudel e Montagnier, 1994).

Infeções causadas por patogénios agressivos como *S. pneumoniae*, *Salmonella* spp. e *M. tuberculosis* são mais comuns neste tipo de doença, sendo que a adenite tuberculosa, com alguma regularidade, a primeira manifestação clínica da infeção por VIH (Rachid e Schechter, 2003).

3.5 Tratamento

A dificuldade do tratamento dos infectados com VIH é devido à falta de seletividade das drogas, dado que este vírus tem a capacidade de se apoderar de alguns processos metabólicos das células hospedeiras tornando-se por vezes resistente ao tratamento.

A adesão à terapêutica é outra das dificuldades encontradas (Rang et al., 2008; Arts e Hazuda 2012).

Uma boa adesão por parte dos doentes ao tratamento pode suprimir-se a replicação viral por longos períodos de tempo, o que aumenta a expectativa de vida do mesmo (Arts e Hazuda, 2012).

A terapia antiretroviral mudou radicalmente nos últimos anos, passando-se de uma monoterapia, nos anos 90, para uma terapia tripla de alta eficiência (HAART), em 1996.

É importante referir que o tratamento com três agentes anti-retrovirais diferentes é essencial para a prevenção de resistência por parte do vírus e que atuam em pelo menos em dois alvos moleculares diferentes (Arts e Hazuda, 2012).

O início desta terapêutica é hoje em dia controverso.

Em 2010, surgiu uma diretiva nos Estados Unidos e União Europeia que recomenda o início deste tipo de terapia quando as células CD4 no sangue periférico sofrem uma redução abaixo de 350 células/mm³ (OMS, 2013; Arts e Hazuda, 2012).

Segundo a OMS (diretiva de 30 de Junho de 2013), em Genebra, o tratamento do VIH deve começar logo no início da doença. Quando o sistema imunitário ainda é competente (com as células CD4 inferiores 500 células/mm³). Há evidências que comprovam uma ajuda a estes doentes, nomeadamente no melhoramento das suas vidas, tornando-as mais saudáveis e extensas, bem como comprovam uma redução da transmissão do VIH. Estas divulgações surgem nas “ Diretrizes consolidadas sobre o

uso de medicamentos antirretrovirais para o tratamento e prevenção da infeção pelo VIH" (OMS, 2013).

Embora a terapia HAART possa aumentar o tempo de vida assim como a sua qualidade em doentes infetados com VIH, não elimina o vírus de vez, apenas o reduz a quantidades substanciais (Valle *et al.*, 2013). Esta terapia permite apenas controlar os níveis de vírus, aliás alguns autores sugerem que a ausência de terapia mesmo que seja por pequenos períodos de tempo como, por exemplo, 2 semanas pode ser suficiente para que o vírus VIH seja novamente detetado no ARN (Bailey *et al.*, 2006). Mas esta terapia tem mais desvantagens associadas, pois provocam toxicidade na mitocôndria o que leva ao aparecimento de alguns problemas como acidose láctica, hiperlipidemia, intolerância à glucose, diabetes mellitus, aterosclerose entre outros (Valle *et al.*, 2013).

As principais classes de fármacos são as seguintes:

3.5.1 Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa

Caracterizam-se pela primeira classe de fármacos a ser aprovada pela FDA.

Esta classe de fármacos necessita entrar na célula hospedeira e sofrer fosforilação pelas cinases celulares originando o derivado 5'- trifosfato, que vai competir pela síntese do DNA viral com os substratos trifosfatados da célula hospedeira.

Dentro desta classe podemos encontrar alguns fármacos como:

Abacavir, Adefovir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Zidovudina, entre outros.

3.5.2 Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa

Nesta classe os compostos ligam-se à enzima transcriptase reversa próximo ao local catalítico desnaturando. Estes fármacos são em diferentes graus indutores, substratos ou inibidores do citocromo P450. Esta classe farmacológica não inibe a transcriptase

reversa de outros lentivírus, como o VIH 2 ou vírus de imunodeficiência símia. Dentro desta classe pode encontra-se os seguintes fármacos:

Efavirenz, Nevirapina, Etravirina, Delavirdina, entre outros.

3.5.3 Inibidores da protease

No que concerne a esta classe, o modo de atuação destes fármacos consiste na inibição da protease através da ligação dos inibidores de protease às mesmas. A protease é responsável pela formação de novas partículas virais maduras, quando se encontra inibida não vai poder efetuar corretamente a sua função e, assim, as novas partículas virais não são capazes de maturar (Arts e Hazuda, 2012).

Os fármacos mais usados pertencentes a esta classe são: Amprenavir, Atazanavir, Fosamprenavir, Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir, Tipranavir, entre outros.

3.5.4 Inibidores da fusão do HIV com as células do hospedeiro

Enfuvirtide, utilizado no tratamento de HIV-1 e em conexão com outros fármacos antirretrovirais, em doentes que tenha sido demonstrada resistência ou não tolerem antirretrovirais das outras classes farmacológicas (Caramona *et al.*, 2011).

3.5.5 Pequenas moléculas antagonistas CCR5

Este fármaco possui a capacidade de estabilizar a conformação do recetor através da sua capacidade de ligação ao CCR5 (Arts e Hazuda, 2012)

Estudos demonstraram que a sua administração oral inibe a replicação viral em macacos e previnem a transmissão vaginal (Veazey *et al.*, 2003).

Assim até agora três antagonistas foram capazes de inibir a replicação viral sendo eles os seguintes:

Vicriviroc,

Maraviroc,

Aplaviroc

IV. Estresse oxidativo e VIH/SIDA

4.1 Infecção por VIH e estresse oxidativo

A infecção por VIH-1 origina uma inflamação crónica que pode facilmente ser confirmado com os elevados níveis plasmáticos de citocinas pro-inflamatórias (IL1, IL-6), de proteínas de fase aguda (como a PCR) e pela produção de ERO em indivíduos seropositivos. Este aumento da inflamação pode também comprovar-se através do aumento dos leucócitos que ao serem ativados aumentam ainda mais a inflamação. A inflamação ocorre sempre que é necessário neutralizar ou eliminar um agente agressor. Assim, esta pode caraterizar-se pelo afluxo de leucócitos e moléculas ao foco inflamatório (Pacheco e Cardoso 2007; Febles *et al.*, 2002).

Durante esta fase há um aumento importante ao nível da respiração, na tentativa de resolução da inflamação. No entanto, ocorre o efeito concomitante e há um aumento exagerado de radicais livres (Roberts *et al.*, 2010). O estresse oxidativo tem sido associado como fator cooperante ao longo do curso da infecção por VIH relacionado com muitos aspetos da patogénese da doença como, por exemplo, a replicação, a resposta inflamatória, a diminuição da proliferação de células imunitárias, a perda de função celular, a apoptose celular, a grave perda de peso e o aumento da sensibilidade a reações adversas dos produtos farmacêuticos (Valle *et al.*, 2013).

A grave perda de peso encontra-se associada a infeções secundárias, alteração do metabolismo e má absorção (Pace e Leaf, 1995). Relativamente à perda de função celular, esta ocorre devido a alterações de fluxo iónico e fluxo de outras substâncias o que origina uma perda de seletividade para a entrada/saída de nutrientes e substâncias tóxicas para a célula. Esta perda de função é uma consequência dos danos que ocorrem nos lípidos proteínas e ADN (Lima e Abdalla, 2001).

Este estresse oxidativo está relacionado com a produção constitutiva de ERO pelos neutrófilos ativados em todas as fases da doença mesmo nas fases iniciais quando os números de células CD₄ ainda se encontram elevadas (Israel e Pocidalo, 1997).

Sabe-se que pessoas infectadas com VIH encontram-se sob uma ativação imune crónica, que se caracteriza por um aumento da geração de ERO e perturbação da defesa antioxidante (Valle *et al.*, 2013).

A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico que visa cumprir os requisitos biológicos relevantes. Durante os processos metabólicos, os radicais livres agem como mediadores na transferência de eletrões no decorrer das várias reações bioquímicas. Quando se encontram em proporções adequadas possibilitam a geração de ATP, através da cadeia transportadora de eletrões, e chegam mesmo a participar nos mecanismos de defesa durante processos de infeção. No entanto, quando a sua produção se torna excessiva podem originar danos oxidativos, devido à redução, ou até mesmo a perda, das defesas antioxidantes (Shami e Moreira, 2004).

A produção de ERO está particularmente aumentada com a ativação de fagócitos e neutrófilos, representando uma parte da atividade microbiana. Neste caso, o sistema imunitário pode originar um aumento relevante de ERO, a nível local ou sistémico. Uma quantidade aumentada dessas moléculas pode levar a alterações oxidativas e consequentemente a uma disfunção das proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lípidos (Kohen e Nyska, 2002). A extensão destes danos depende do sistema de defesa antioxidante no local da inflamação (Shami e Moreira, 2004).

Os monócitos, macrófagos e células dendríticas são células imunitárias de grande importância na imunidade inata e adaptativa, representando um papel crucial no início da infeção pelo VIH, contribuindo para a sua patogénese durante toda a infeção (Valle *et al.*, 2013).

Alguns monócitos infectados são recrutados para o trato gastrointestinal, onde posteriormente se transformam em macrófagos e dão origem a um reservatório viral no intestino (Valle *et al.*, 2013).

As células dendríticas são também envolvidas na disseminação do vírus a seguir à infeção primária. Logo após ficarem infectadas com o vírus VIH-1, no local da infeção, as células maduras migram para os gânglios linfáticos, onde desempenham um papel

importante na transmissão de VIH-1 para as células TCD4⁺. Estas células maduras conseguem manter a replicação viral em baixos níveis contribuindo para a latência do vírus. A mecânica desta persistência viral ainda não é conhecida.

Sabe-se hoje em dia que os macrófagos portadores do recetor CD4 e do coreceptor CCR5 são alvos celulares iniciais para o VIH-1. Estas células têm a capacidade de produzir e manter o vírus por longos períodos de tempo. As células hematopoiéticas, também têm sido propostas como um possível reservatório viral, uma vez que a subprodução de células hematopoiéticas CD34⁺ expressam as moléculas CD4 e CCR5 e/ou CXCR4 e estas células são suscetíveis de serem infectadas pelo VIH-1 (Bailey, 2006).

Mecanismos de proteção contra agentes patogénicos incluem a geração de ERO, independentemente da sua origem, e devem desempenhar um papel importante em vários processos a nível celular, incluindo a sinalização, proliferação e morte (Valle *et al.*, 2013). É importante referir que todas as células infectadas com VIH possuem a capacidade de produzir ERO.

As ERO são também importantes na neutralização da virulência de microrganismos. A capacidade do sistema imunológico para a esterilização do local de infeção, através da produção rápida de O₂⁻, H₂O₂, ·OH, HOCL, ONOO⁻, pode garantir a sobrevivência do organismo humano (Valle *et al.*, 2013). Pessoas com um sistema imune robusto, com uma produção rápida mas coordenada de ERO, sobreviverão (Valle *et al.*, 2013).

As células T sofrem muitas divisões celulares durante a resposta imune adaptativa ficando sujeitas a um estresse proliferativo. Têm sido apontadas como células de sinalização, pois estão presentes durante os processos de inflamação. Como se encontram presentes no local da inflamação sofrem ataque por parte das ERO.

Pode observar-se uma progressiva diminuição irreversível das células T CD4⁺ durante a infeção por VIH, sendo esta diminuição nitidamente associada ao aumento progressivo de carga viral no plasma (Israel e Pocidalo, 1997; Febles *et al.*, 2002).

As células mamíferas têm a capacidade de ativar mecanismos de proteção para combater este estresse oxidativo, numa primeira fase pela ativação de uma via específica de transdução de sinal. A transdução de sinal é um processo que autoriza a que a informação seja transmitida a partir do exterior de uma célula a vários elementos funcionais no interior da mesma. A transdução de sinal é ativada por sinais extracelulares, tais como hormonas, fatores de crescimento, citocinas e neurotransmissores. Estes controlam a transcrição de vários genes que originam produtos importantes na resposta ao estresse oxidativo (Thannickal e Fanburg, 2000).

É uma característica bem conhecida que as células são capazes de produzir internamente ERO que são utilizados na indução e conservação de vias de transdução de sinal, envolvidos no crescimento e diferenciação celular (Valko *et al.*, 2007).

Os infectados com VIH encontram-se sob uma ativação crónica do sistema imune que se caracteriza pelo aumento da produção de ERO bem como a perturbação no sistema de defesa antioxidante.

A ativação crónica dos monócitos pelo VIH provoca um aumento da produção de ERO que, por sua vez, modela e ativa fatores de transcrição nuclear (NF- κ B) o que, no final, origina a expressão do gene viral (Valle *et al.*, 2013; Febles *et al.*, 2002).

O fator NF- κ B possui a capacidade de estimular a transcrição do VIH, mediante a transativação das sequências terminais do genoma (LTR) (Febles *et al.*, 2002).

Este fator encontra-se associado à capacidade de persistência do vírus nos macrófagos, pois o aumento de monócitos e macrófagos durante a infeção por VIH-1 leva ao aumento do fator NF- κ B consequência do aumento da degradação dos seus inibidores (IkB α , IkB β e IkB ϵ). Ao estarem inibidos vão permitir o aumento do fator NF- κ B originando um aumento da transcrição do vírus. Esta replicação vai ser negativamente controlada pelo aumento dos níveis Bcl-2, uma proteína anti-apoptótica, que diminui a produção exagerada de vírus mantendo-a em níveis sustentados e compatíveis com a sobrevivência da célula (Valle *et al.*, 2013 e Ma, 2010).

As ERO podem ainda promover a secreção de citocinas como TNF- α , IL-1 e IL-6 pelos monócitos e macrófagos, os quais ativam o fator NF- κ B (Fables *et al.*, 2002). Estas IL possuem um importante papel na sinalização e interação celular (Pacheco e Cardoso, 2007).

A ativação de células T, após o reconhecimento do antígeno, é um processo bem regulado. O complexo MHC- péptido e outras moléculas ativam o recetor de células T (TCR) assim como da sua molécula co estimuladora CD₂₈, sendo a ligação à CD₂₈ essencial para a célula atingir o completo estado de ativação necessário para a produção de IL-2 e expansão clonal. A sinalização TCR resulta em cascatas de fosforilação sucessivas reguladas por fosfatases proteicas de tirosina (PTP) e cinases (PTK), levando à formação do complexo de sinalização, a partir deste complexo várias vias de sinalização, tais como a proteína cinase e o NF- κ B regulam um grande número de genes como os de função imunitária, inflamação, apoptose, proliferação celular, entre outros (Larbi *et al.*, 2007 e Ma, 2010).

Um outro agente de ativação do NF- κ B, é a glutathione. Foi demonstrado que em infectados com VIH os níveis de GSH encontram-se em níveis subnormais, desta forma esta diminuição está na origem de alterações da função das células T, bem como, no aumento da replicação viral (Shin *et al.*, 2013).

As células T sofrem várias divisões celulares durante as respostas imunes adaptativas, sendo sujeitas a estresse proliferativo chegando mesmo ao limite da senescência replicativa. O estresse oxidativo, nestas células, aumenta a expressão do recetor Fas/CD₉₅ que reage com o ligando FAS, também aumentado. Este complexo ativa o mecanismo de apoptose dos linfócitos T CD₄⁺, infectados ou não. Estas condições são compatíveis com a progressão do VIH.

A morte de linfócitos T CD₄⁺ pelo VIH-1, por si só, não explica a perda das mesmas no decorrer da infeção. No entanto, a evidência experimental apoia um papel patofisiológico relativamente ao processo de apoptose das células T CD₄ na SIDA (Sloand *et al.*, 1997).

Um excesso de ERO provoca modificações em proteínas, como alterações nas estruturas (o que provoca fragmentação espontânea e aumento da suscetibilidade proteolítica) e perda da sua função. Os fosfolípidos das membranas biológicas também são altamente sensíveis à oxidação por parte dos ERO, estando envolvidos em processos de peroxidação lipídica. Relativamente ao ADN, este também sofre alterações devido ao estresse oxidativo podendo estas alterações ser a nível estrutural originando ruturas dos filamentos e modificações nos pares de bases (Valle *et al*, 2013).

Esta patologia precede de depleção intracelular de glutathiona, aumento do ERO e alterações da membrana mitocondrial (Perl e Banki, 2000).

Como já referido anteriormente os pacientes infetados com VIH assintomáticos, ou já numa fase mais avançada da infeção, demonstram elevados níveis de estresse oxidativo, o que aumenta os metabolitos da peroxidação lipídica no plasma e há uma redução dos níveis de antioxidantes quando comparados com controlos saudáveis. A redução de GSH e TAS no plasma, o aumento do malondialdeído e alterações da atividade das enzimas CAT e SOD também são demonstradas (Valle *et al.*, 2013).

Segundo Allard e col., o aumento da peroxidação lipídica induzida pelos ERO pode desempenhar um papel na estimulação de replicação do VIH (Allard et al., 1998).

O estresse oxidativo está associado a vários processos incluindo o envelhecimento e diversas doenças crónicas como, por exemplo, o cancro, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, cuja incidência parece aumentada nos indivíduos com VIH.

4.2 Toxicidade do tratamento antirretroviral

A introdução da HAART no tratamento da infeção pelo VIH está associado ao aumento do tempo de sobrevida e da qualidade de vida destes doentes. Contudo, parece também estar associado com o aumento de efeitos adversos da doença e da própria medicação (Miró et al., 2005).

A HAART diminui a replicação viral de forma a evitar a progressão da doença, a preservar a função imunitária e a reduzir o desenvolvimento de resistências. Contudo, parece existir uma viremia residual nestes doentes. Segundo Bailey e col., (2006), existem diversos reservatórios onde o VIH persiste e onde a atuação das drogas é menos eficaz. Existem, assim, várias explicações para a ineficácia completa da terapêutica: a existência dos santuários anatómicos (cérebro, nódulos linfáticos, entre outros) onde a penetração e atuação das drogas é sub-ótima; a presença do vírus com uma replicação silenciosa; ou a presença de uma replicação lenta que não é completamente inibida pela HAART (Valle *et al.*, 2013).

Contudo, a relevância do estresse oxidativo durante a infeção pelo VIH-1 e o seu tratamento é ainda uma especulação. A terapia antirretroviral está frequentemente associada a complicações metabólicas como, acidose láctica, hipercolesterolemia, intolerância à glicose, diabetes mellitus, redistribuição de gordura, aterosclerose e, ainda, no aumento de estresse oxidativo.

A ativação imunitária está associada com a replicação do VIH-1 e com o aumento do estresse oxidativo. No entanto, a replicação viral poderá ser atenuada pela terapia antirretroviral. Nas células mamíferas, a maior parte da produção dos ERO ocorre a nível das mitocôndrias.

Numa tentativa de resolver este dilema, ou seja, se o tratamento antirretroviral pode ou não provocar estresse oxidativo, Hulgán *et al.*, 2007, determinaram no plasma concentrações de F2-Isoprostanos (são compostos do tipo prostaglandina formados *in vivo*, através de um mecanismo não enzimático que envolve a peroxidação lipídica), tanto em indivíduos infectados com VIH-1 tratados, como não tratados, sendo concluído que a terapia antirretroviral está associada ao aumento do estresse oxidativo. Houve efetivamente um aumento da concentração de F2- Isoprostanos no plasma sendo, por isso, sugerido pelos autores possíveis associações entre medicamentos individuais e estresse oxidativo (Mine *et al.*, 2005).

Segundo Miró e col., os NRTI bloqueiam a ADN polimerase mitocondrial e, assim, estão associados com a depleção da ADNmt (ADN mitocondrial). Existem estudos a

sugerir que fármacos como a Estavudina são os mais tóxicos para as mitocôndrias. No entanto, ainda não há conclusões claras (Miró *et al.*, 2005).

As mitocôndrias possuem um ADNmt diferente do ADN nuclear. A ADN polimerase γ é uma enzima que replica e mantém o ADNmt. As proteínas traduzidas a partir deste ADN estão envolvidas nos complexos transportadores de eletrões da fosforilação oxidativa. A inibição da ADN polimerase γ , sobretudo pelos NRTI, resulta numa depleção da ADNmt, alterando a produção das respetivas proteínas, provocando uma depleção energética e uma disfunção tecidular. Todos estes processos levam a um aumento das ERO e, seguidamente, ao estresse oxidativo.

Assim, parece que os efeitos nocivos da HAART (incluindo a miopatia, cardiomiopatia, anemia, hiperlactemia/acidose láctica, pancreatite, polineurite e lipodistrofia) podem ser causados pela toxicidade mitocondrial (Valle *et al.*, 2013). Apesar desta associação ainda não é bem claro esta toxicidade direta da HAART.

V. Conclusão

A produção de ERO constitui um processo fisiológico e contínuo no organismo humano. As ERO são importantes para o bom funcionamento do organismo, pois participam em processos biológicos como: produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização, entre outras. No entanto, quando se encontram em excesso provocam danos.

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigénio ou nitrogénio e os antioxidantes.

Está descrito na literatura que a replicação viral do VIH é causadora do aumento do estresse oxidativo. Esta associação deve-se à ativação crónica do sistema imune que leva a uma inflamação crónica. Esta inflamação leva à ativação dos monócitos e neutrófilos o que aumenta a produção de ERO sobretudo devido à produção mitocondrial.

Alguns fármacos usados no tratamento desta doença podem também aumentar o estresse oxidativo, sobretudo devido à sua toxicidade sobre a mitocôndria. Tudo isto leva a um ciclo vicioso com a produção exacerbada de ERO pois o efeito tóxico dos fármacos pode causar mutações ao nível de ADNmt o que pode levar a uma produção exagerada de ERO.

No entanto, o efeito deletério das ERO pode ser prevenido pela defesa antioxidante normalmente existente no organismo de indivíduos saudáveis, composto por concentrações adequadas de vitaminas A, E, C e β -caroteno, entre outros, bem como um adequado sistema enzimático.

O estresse oxidativo pode variar de doente para doente e conforme a progressão da doença deve avaliar-se regularmente em cada paciente os níveis de estresse oxidativo, e desta forma, atribuir um tratamento adequado a cada doente de forma a proporcionar-lhes uma melhor qualidade de vida. Estudos *in vitro* sugerem que vários antioxidantes possuem a capacidade de melhorar o grau de severidade da doença.

VI. Bibliografia

Allard, J.P. *et al.* (1998). Oxidative stress and plasma antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. *Am J Clin Nutr*, 67, 143-7.

André L. *et al.* (2006). Oxidative Stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. *Quim Nova*, 29, 113-23.

Arts, E.J. e Hazuda, D.J. (2012). HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 2, pp.a007161.

Bailey, R. *et al.* (2006). Residual human immunodeficiency virus type 1 viremia in some patients on antiretroviral therapy is dominated by a small number of invariant clones rarely found in circulating CD₄ T cells. *Journal of Virology* 80, 6441-57.

Barbosa, *et al.* (2008). Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim*, 33, p. 111-28.

Berbecki, J. *et al.* (2011). Processes of free radical lipid peroxidation with a particular regard to the role of paraoxonase-1 in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Wiad Lek*, 64, pp.31-6. Biachi, M. e Antunes, L. (1999). Radicais livres e principais antioxidantes da dieta *Revista de nutrição campirás*, 12, pp. 123-30.

Borel, J.-P. *et al.* (1999). Doenças dos glóbulos brancos: leucemias, deficiências imunitárias. In: Borel J.-P. (Ed.). *Bioquímica para o clínico*. Lisboa, Éditions Frison Roche, pp. 292-94.

Calderon, E. *et al.* (1990). Nutritional disorders in HIV disease. *Prog Food Nutr Sci*, 14, pp.371-402.

Caramona, M. *et al.* (2003). Medicamentos anti-infecciosos. In: Caramona, M. (Ed.). *Prontuário terapêutico*. Portugal, INFARMED, p. 60-8.

Caramona *et al* (2012). Medicamentos anti-infecciosos. *In: Caramona. (Ed.). Prontuário terapêutico*. Portugal, INFARMED, p. 59-7.

Chang, C.C., Crane, M., Zhou, J. et al. (2013). HIV and co-infections. *Immunol Rev*, 254, pp.114-42.

Clarkson, P.M. e Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*, 72, pp.637S-46S.

Cuppari, L. e Ferrini M. (2005). Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). *In: Schor Nestor (Ed.) Guia de nutrição, nutrição clinica no adulto*. 2^a edição. Brasil, editora Manole Ltda, p. 238.

David, A. e David J. (2006). Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*, 29, pp. 113-26.

Daudel, R. e Montagnier, L. (1994). A Sida – Uma doença complexa. *In: Daudel, R. e Montagnier, L. (Ed.) A Sida*. Lisboa, Gráfica Manuel Barbosa & Filhos Lda, pp 33-7.

Deresz, L. *et al*. (2007). Oxidative stress and physical exercise in HIV positive Individuals. *Brazilian journal of sports medicine*, 13, pp. 275-79.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82, pp.47-95.

Eugenia, C. *et al*. (2007). Imunodeficiências. *In: Arosa, F., Cardoso, E., Pacheco, F. (Ed.). Fundamentos de imunologia*. Lousã, Lidel, pp. 227-29.

Febles, C. *et al.* (2002). Fenomenos oxidativos asociados con la infección por VIH/SIDA. *Rev Cubana Invest Biomed*, 21, pp. 201-6.

Ferreira, A.L. e Matsubara, L.S. (1997). Free radicals: concepts, associated diseases, defense system and oxidative stress. *Rev Assoc Med Bras*, 43, pp.61-8.

Ferreira , R., Riffel, A. e Sant'Ana, A. (2010). HIV: Mecanismos de replicação alvos farmacológicos e inibição por produtos derivados de plantas. *Quim nova*, 33, pp.1743-1755.

Freeman, B.A. e Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47, pp.412-26.

Frei, B., Kim, M.C. e Ames, B.N. (1990). Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, pp.4879-83.

Freire, S. *et al.*, (2003). Uric acid as a monitor of oxidative stress in a random skin flap in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 18, pp. 534-36.

Gendron, K. *et al.*, (2011). The activity of the HIV-1 IRES is stimulated by oxidative stress and controlled by a negative regulatory element. *Nucleic Acid Research*, 39, pp. 902-12.

Halliwell, B. e Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142, pp.231-55.

Hulgan, T. *et al.* (2003). Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*, 37, pp.1711-7.

Israel, N. e Pocidalo, M. (1997). Oxidative stress in human immunodeficiency virus infection. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 53, pp. 864-70.

Júnior, L., Höehr, L., Vellasco, A. *et al.* (2000). Antioxidant system involving the glutathione metabolic cycle associated to electroanalytical methods in the oxidative stress evaluation. *Quim. Nova*, 24, 112-19.

Júnior, G. e Lewi, D. (2004). Infecções oportunistas na Aids: Profilaxia e tratamento. In: Schor N. (Ed.). *Guia de infectologia*. Brasil, editora Manole Ltda, pp. 135-62.

Kohen, R. e Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicological Pathology*, 30, pp. 620-50.

Larbi, A., Kempf, J. e Pawelec, G. (2007). Oxidative stress modulation and T cell activation. *Exp Gerontol*, 42, pp. 852-8.

Lewi, D. *et al.* (2004). Síndrome da imunodeficiência humana adquirida (Aids). In: Schor N. (Ed.). *Guia de infectologia*. Brasil, editora Manole Ltda, pp. 125- 34.

Lima, E. e Abdalla, D. (2001). Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 37, pp. 294-03.

Ma, Q. (2010). Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. *Pharmacol Ther*, 125, pp. 376-93.

Matos, C. *et al.* (2009). Total antioxidant activity and trace elements in human milk: the first 4 months of breast-feeding. *Springer*, DOI 101007/s00217-009-1157-2.

Mayne, S. (2007). Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *The journal of nutrition*, 03, pp. 933-40.

Mihm, S. *et al.* (1991). Inhibition of HIV-1 replication and NF-kappa B activity by cysteine and cysteine derivatives. *AIDS*, 5, pp.497-503.

Milne, G., Musiek, E., e Morrow, J. (2005). F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview. *Biomarkers*, 1, pp. 10-23.

Miro, O. *et al.* (2005). Mitochondrial studies in HAART-related lipodystrophy: from experimental hypothesis to clinical findings. *Antivir Ther*, 10 Suppl, 2, pp.73-81.

Montagnier, L. (1995). Novas pistas. In: Montagnier, L. (Ed.). *Vírus e Homens: O combate contra a sida*. Lisboa, instituto Piaget, p. 178.

Morrow, J.D. *et al.* (1995). Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med*, 332, pp.1198-203.

Shin, D.H. *et al.* (2012). Relationship of Oxidative Stress with HIV Disease Progression in HIV/HCV Co-infected and HIV Mono-infected Adults in Miami. *Int J Biosci Biochem Bioinforma*, 2, pp.217-223.

Sloand, E. M. *et al.* (1997). Role of Fas ligand and receptor in the mechanism of T-cell depletion in acquired immunodeficiency syndrome: effect on CD4+ lymphocyte depletion and human immunodeficiency virus replication. *Blood*, 89, pp.1357-63.

Oliveira, F. e Patin R. (2008). Hipovitaminoses- Vitaminas A e D. In: Nóbrega F. (Ed.). *O que você quer saber sobre a nutrição*. Brasil, Editora Manole Ltda, p.275.

OMS, Organização Mundial de Saúde. (2012). [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/index.html>>. [Consultado em 29/11/2012].

OMS, Organização Mundial de Saúde. (2013). [Em linha]. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/new_hiv_recommendations_20130630/en/>. [Consultado em 15/7/2013].

OMS, Organização Mundial de Saúde (2013). [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/index.html>>. [Consultado em 18/7/2013].

Pace, G. e Leaf, C. (1995). The role of oxidative stress in HIV disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 19, pp. 523-28.

Pacheco e Cardoso. (2006). Imunidade inata e adaptativa *In*: Arosa et al. (Ed.). Fundamentos de imunologia, Lisboa, Lidel, p. 56.

Palozza, P. e Krinsky, N.I. (1992). Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: an overview. *Methods Enzymol*, 213, pp.403-20.

Percário, S. e Baptista, S. (1996). Radicais livres, antioxidantes e oligoelementos. *Revista da MBRL*, 2, pp. 10-2.

Perl, A. e Banki, K. (2000). Genetic and metabolic control of the mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate production in HIV disease. *Antioxid Redox Signal*, 2, pp.551-73.

Rachid M.; Schechter M. (2003). Manual de HIV/ AIDS. *In*: Rachid M.; Schechter M. (Ed.). 7^a edição. Rio de Janeiro, Revinter, pp 3-11

Rang, H.P. *et al.* (2008). Fármacos antivirais. *In*: Rang, H.P. e Dale, M.M. (Ed.). *Rang & Dale Farmacologia*. 6^a edição. Rio de Janeiro, Elsevier, p. 682.

Roberts, A. *et al.* (2010). Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species, *Toxicology*, 276, pp.85-94.

Saltman, P. (1989). Oxidative stress: a radical view. *Semin Hematol*, 26, pp.249-56.

Schuelke, M., Wagner, K.R., Stolz, L.E. *et al.* (2004). Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med*, 350, pp.2682-8.

Santos, D., Fernandes A. e Peixoto F. (2007). Stress oxidativo em sistemas biológicos. Princípios básicos e mecanismos de defesa. (Ed.). Stress oxidativo em sistemas biológicos. Princípios básicos e mecanismos de defesa. Vila Real, Serviços gráficos da UTAD, p.8-31.

Schwarz, K. D. (1996). Oxidative stress during viral infection: A Review. *Free Radical biology & Medicine*, 21, pp. 641-49.

Sepulveda R., Watson R. (2002). Treatment of antioxidant deficiencies in AIDS patients. *Nutrition Research*, 22, pp. 27-37.

Serbinova, E.A. *et al.* (1989). Lipid peroxidation activation and cytochrome P-450 decrease in rat liver endoplasmic reticulum under oxidative stress. *Toxicol Lett*, 47, pp.119-23.

Shami. M, e Moreira. E. (2004). Lycopene as an antioxidant agent. *Revista de Nutrição Campinas*, 17, pp. 227-36.

Shin, D.H. *et al.* (2012). Relationship of Oxidative Stress with HIV Disease Progression in HIV/HCV Co-infected and HIV Mono-infected Adults in Miami. *Int J Biosci Biochem Bioinforma*, 2, pp.217-223.

Sloand, E. *et al.* (1997). Role of Fas ligand and receptor in the mechanism of T-cell depletion in acquired immunodeficiency syndrome: effect on CD4+ lymphocyte depletion and human immunodeficiency virus replication. *Blood*, 89, pp.1357-63.

Smith, R.L. *et al.* (2012). Premature and accelerated aging: HIV or HAART? *Front Genet*, 3, pp.328.

Stehbens, W.E. (2004). Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol*, 77, pp.121-32.

Suesh. *et al.* (2009). Total antioxidant capacity- a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *Jornal of Biomedical Science*, 16, p. 61.

Sundaram. *et al.* (2008). Changes in antioxidant profile among HIV.infected individuals on generic highly active antiretroviral therapy in southern India. *International Journal of Infectious Diseases*, 12, pp. 61-6.

Suttajit, M. (2007). Advances in nutrition support for quality of life in HIV+/AIDS. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16 Suppl, 1, pp.318-22.

Thannickal, J. e Fanburg, L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 279, pp.1005–28.

Traber, M.G. e Packer, L. (1995). Vitamin E: beyond antioxidant function. *Am J Clin Nutr*, 62, pp.1501-09.

Uzasci, L., Nath, A. e Cotter, R. (2013). Oxidative Stress and the HIV-Infected Brain Proteome. *J Neuroimmune Pharmacol*.

Valle, L., Hernández. R., Ávila, J. (2013). Oxidative stress associated to disease progression and toxicity during antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus infection. *Jornal of Virology & Microbiology*, ID 279685.

Valko, M., *et al.* (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, pp.44-84.

Vannuchi, H. *et al.* (1998). Role of nutrients on lipid peroxidation and oxidant defense system. *Medicina Ribeirão Preto*, 31, pp. 31-44.

Vasconcelos, S. *et al.* (2006). Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. *Quim. Nova*, 30, pp.1323-38.

Veazey, R.S. *et al.* (2003). Use of a small molecule CCR5 inhibitor in macaques to treat simian immunodeficiency virus infection or prevent simian-human immunodeficiency virus infection. *J Exp Med*, 198, pp.1551-62.

Weffort, V. (2008). Hipovitaminoses- Vitaminas A e D. In: Nóbrega F. (Ed.). O que você quer saber sobre a nutrição. Brasil, editora Manole Ltda, p.275.

Wilcox, R. (2007). HIV in the Emergency Department. In: Slaven, E., Stone, S., Lopez, F. (Ed.). *Infectious diseases Emergency department Diagnosis & Management*. United States of America, Copyright, pp. 176-85

Wilen, C.B., Tilton, J.C. e Doms, R.W. (2012). HIV: cell binding and entry. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2.

Yu, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74, pp.139-62.

Zanuto R. *et al.* (2011). Metabolismo celular. In: Loyelo T. (Ed). *Biologia e Bioquímica bases aplicadas às Ciências da Saúde*. Brasil, Phorte editora, pp. 209-10.